Shandon Sequenza®

CENTRO DE INMUNOTINCIÓN

ESPAÑOL

Número 2

GUÍA DEL OPERADOR

73310025ES

Thermo

ELECTRON CORPORATION

SÍMBOLOS

A lo largo de este manual y en el equipo se utilizan los siguientes símbolos y convenciones.



ESTE SÍMBOLO ADVIERTE QUE ES PRECISO SEGUIR LAS INSTRUCCIONES PARA UN USO SEGURO Y CORRECTO. CUANDO APAREZCA ESTE SÍMBOLO EN EL EQUIPO, CONSULTE SIEMPRE ESTA GUÍA DEL OPERADOR.



ESTE SÍMBOLO ADVIERTE QUE PUEDE EXISTIR UN PELIGRO BIOLÓGICO ASOCIADO AL EQUIPO. ACTÚE SIEMPRE CON SENTIDO COMÚN Y TOME LAS MEDIDAS OPORTUNAS.

ADVERTENCIA **El documento incluye un aviso cuando existe peligro de lesiones personales o de dañar las muestras o el equipo.**

Nota

1 *Las notas aportan más información sobre una tarea o instrucción, pero no forman parte de ésta.*

Thermo Shandon Limited es una compañía acreditada por las normas ISO 9001 y TickIT.
Thermo Electron Corporation es el nombre comercial de Thermo Shandon Limited.

El equipo Shandon Sequenza® cumple los siguientes requisitos de la marca CE:
Directiva sobre diagnósticos in vitro 98/79/CE



AVISO SOBRE LA INSTALACIÓN DE LA BATERÍA

Shandon Sequenza® recibe energía de cuatro baterías alcalinas de magnesio de 1,5 V (tipo D). Para colocarlas, realice lo siguiente:

1. Extraiga todas las bandejas, las bandejas portaobjetos y los recipientes.
2. Invierta el equipo. El compartimiento de las baterías está situado debajo, en la parte derecha.
3. Afloje los dos tornillos de cabeza moleteada y quite la tapa.
4. Preste atención a la polaridad cuando introduzca las baterías.
5. Vuelva a colocar y asegurar la tapa. Los tornillos de cabeza moleteada sólo deben apretarse a mano.
6. Vuelva a colocar el equipo en la posición original y pulse “START ON” (Iniciar) para comprobar que se activa.
7. Inserte de nuevo las bandejas, los recipientes, etc.

ADVERTENCIA **Se recomienda cambiar las baterías cada seis meses, a menos que se gasten antes de que transcurran 700 horas, que es la duración prevista.**



DESECHE LAS BATERÍAS CONFORME A LA NORMATIVA LOCAL.

SHANDON SEQUENZA®
MANUAL DEL USUARIO

ÍNDICE

ÍNDICE ALFABÉTICO

Declaración de conformidad

La presente Declaración de conformidad es válida únicamente en el caso de que el equipo se utilice de acuerdo con esta Guía del operador.

Nombre del fabricante: Thermo Electron Corporation

Dirección del fabricante: Chadwick Road, Astmoor, Runcorn,
Cheshire, WA7 1PR
INGLATERRA

Descripción del producto: Centro de inmunotinción

Nombre del producto: **Shandon Sequenza®**
(73300001)
con accesorios suministrados de serie

Año de fabricación (CE): 1995

Este producto cumple los requisitos principales de las siguientes directivas:

Directiva sobre diagnósticos in vitro 98/79/CE

Expedida por: K Waldron
Director de Control de Calidad
Thermo Electron Corporation
Diagnósticos clínicos, Patología anatómica

Fecha:
23 de septiembre de 2003

Los accesorios opcionales que se considera que están sujetos a la directiva sobre diagnósticos in vitro (IVDD) aparecen identificados de forma específica en esta Declaración de conformidad. Los demás accesorios de serie que se suministran posteriormente se consideran piezas de repuesto. Los elementos útiles ofrecidos como accesorio no están sujetos a la directiva IVDD.

BIENVENIDA

Permítanos que le demos la bienvenida a la estación de inmunotinción Shandon Sequenza®.

Todos los productos de Thermo Electron están diseñados de conformidad con las normas de seguridad vigentes y no comportan ningún riesgo si se utilizan conforme a las instrucciones indicadas en esta guía. No obstante, por razones de seguridad, es preciso tomar las siguiente precauciones:



PUEDE EXISTIR UN PELIGRO BIOLÓGICO ASOCIADO AL EQUIPO, DERIVADO DEL CONTENIDO DE LOS PORTAOBJETOS. UTILICE GUANTES DE PROTECCIÓN CUANDO MANIPULE LAS MUESTRAS, ACTÚE SIEMPRE CON SENTIDO COMÚN Y TOME LAS MEDIDAS OPORTUNAS.



DESECHE TODAS LAS CÁMARAS DE INCUBACIÓN DE CONFORMIDAD CON LAS NORMATIVAS LOCALES.



PRESTE ATENCIÓN CUANDO VACÍE O LLENE LOS RECIPIENTES CON REACTIVO. ELIJA UNA BUENA PRÁCTICA DE LABORATORIO Y CONSULTE LA HOJA DE DATOS DE SEGURIDAD DE MATERIALES (MSDS) DEL FABRICANTE.

SEGURIDAD

ESTA SECCIÓN CONTIENE INFORMACIÓN IMPORTANTE RELATIVA A LA SEGURIDAD. LÉALA CON ATENCIÓN.

Los productos de Thermo están diseñados para funcionar de forma adecuada y fiable y cumplir las normas de seguridad. El uso del Shandon Sequenza® no conlleva ningún riesgo si se utiliza conforme a las instrucciones indicadas en este manual. Sin embargo, una manipulación incorrecta puede ocasionar daños en el equipo y riesgos para la salud. Es importante tomar las siguientes precauciones de seguridad:

i **Es imprescindible leer y comprender la Guía del operador, y solamente utilizar la unidad siguiendo las instrucciones correspondientes. La protección del equipo puede verse perjudicada si no se siguen las instrucciones.**

ii **No modifique el equipo. Si se llevan a cabo modificaciones no autorizadas, es posible que el equipo resulte inseguro y la garantía quede anulada.**

iii **No desmonte los paneles ni las cubiertas.**

iv **Tal y como se suministra, el Shandon Sequenza® cumple la normativa de seguridad IEC1010-1. Sin embargo, la adición de sustancias químicas puede conllevar ciertos riesgos. Cuando intervengan este tipo de sustancias, será imprescindible adoptar prácticas de laboratorio adecuadas y tener en cuenta los riesgos que puede comportar el uso de algunas de ellas.**

v **Es importante aplicar las normas habituales de seguridad y una buena práctica de laboratorio. Emplee siempre el sentido común y las mejores prácticas conocidas cuando utilice el equipo.**

vi **Consulte los procedimientos de su laboratorio y la ficha técnica del fabricante cuando use reactivos.**

vii **Si se ha utilizado el equipo con materiales tóxicos o contaminados con microorganismos patógenos, siga las instrucciones de limpieza indicadas en el *Capítulo 8, Limpieza y mantenimiento, en la página 21*. Para devolver el equipo a Thermo, cumplimente el Certificado de devolución del producto (*página 26*).**

viii **Limpie regularmente el equipo según se describe en el *Capítulo 8, Limpieza y Mantenimiento, (página 21)* de esta Guía del operador.**

ix **Utilice únicamente piezas de repuesto y accesorios autorizados con el Shandon Sequenza®.**

x **Para un rendimiento estable, es esencial que los procedimientos de mantenimiento sean correctos. Se aconseja suscribir un contrato de mantenimiento con su distribuidor.**

DECLARACIÓN DE GARANTÍA

En Thermo estamos orgullosos de nuestra calidad, fiabilidad y servicio posventa. Nuestro esfuerzo por mejorar el servicio a nuestros clientes es constante.

No dude en solicitar a su distribuidor o representante información sobre los contratos de mantenimiento que le ayudarán a conservar su adquisición en condiciones óptimas durante muchos años.

Las disposiciones de la garantía varían necesariamente según la legislación de cada país o región; encontrará los detalles en la documentación suministrada o a través de su distribuidor o representante.

Tenga en cuenta que la garantía puede quedar anulada si:

- Se realiza alguna modificación en el equipo.
- Se utilizan accesorios y reactivos no autorizados por Thermo.
- El equipo no se utiliza o mantiene conforme a las instrucciones indicadas en esta Guía del operador.

Thermo
ELECTRON CORPORATION

DECLARACIÓN DE SEGURIDAD DE DEVOLUCIÓN DEL PRODUCTO

Parte 1 CERTIFICADO DE DESCONTAMINACIÓN

Todo equipo o componente del mismo debe limpiarse antes de su devolución y, si fuera necesario, debe ir acompañado de un Certificado de descontaminación completo. Si el equipo o cualquiera de sus componentes se recibe sin limpiar, o si Thermo Electron Corporation lo considera peligroso, el equipo o componente se devolverá sin reparar y el cliente correrá con los gastos.

Es importante enviar el certificado por correo o por fax, y adherir una copia al exterior del paquete. Los paquetes no se abrirán hasta que la empresa esté en posesión del certificado correspondiente.

Este formulario DEBE rellenarlo el cliente, NO los empleados o distribuidores de Thermo.

Cuando sea preciso devolver un equipo o cualquiera de sus componentes a THERMO, ha de tenerse en cuenta lo siguiente:

1 Si el equipo o cualquiera de sus componentes ha estado expuesto a, o en contacto con, materiales potencialmente patógenos o radiactivos, es imprescindible descontaminarlo.

2 Los procedimientos de descontaminación establecidos se indican en las directivas europeas de salud y seguridad. Para evitar malentendidos, todos los equipos o componentes devueltos deben acompañarse de un certificado que indique lo siguiente:

Certificamos que este (modelo) .... nº de serie

· no ha estado expuesto a materiales patógenos, radiactivos ni peligrosos y se ha limpiado;

O

· ha sido descontaminado y limpiado (en caso de haber estado expuesto a los materiales mencionados) según los procedimientos autorizados, tras la exposición a:

....

· ¿Se ha utilizado el equipo para trabajar con encefalopatías espongiformes transmisibles en humanos o animales, por ejemplo, la enfermedad de Creutzfeld-Jacob, cenurosis o EEB? **SÍ / NO**

En caso afirmativo, póngase en contacto con el servicio técnico de Thermo antes de adoptar medidas.

Firmado .... Cargo ....

Nombre (mayúsculas) ....

Empresa u organización ....

Dirección completa ....

....

Parte 2 Directrices para devolver equipos

Utilice la lista siguiente para asegurarse de que el equipo devuelto está listo para su transporte.

· Se han eliminado del equipo todos los reactivos/parafina, incluidos los purgadores de vapor (si procede).......................

· Los accesorios están fijos/por separado..

· El equipo lleva abrazaderas de transporte como se indica en la guía del operador...

· El equipo se ha embalado en su embalaje original..SÍ / NO

NÚMERO DE RMA ....

TRANSPORTISTA ....

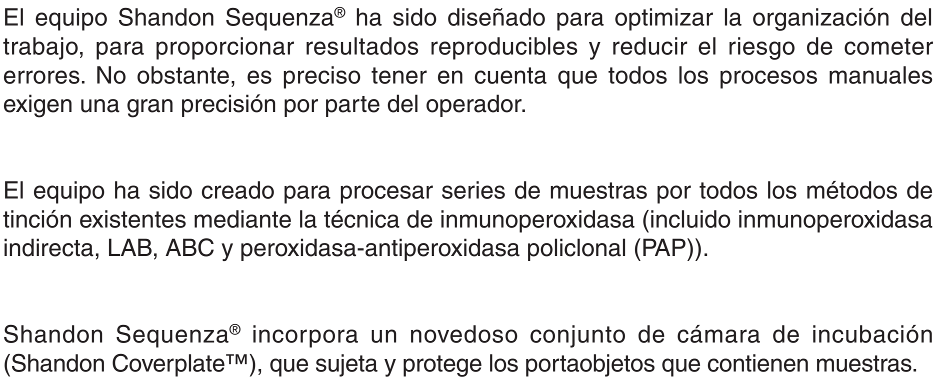
A LA ATENCIÓN DE ....

Thermo Electron Corporation, 93-96 Chadwick Road, Astmoor, Runcorn, Cheshire, WA7 1PR, Reino Unido
Tel.: +44 (0) 1928 566611; Fax: +44 (0) 1928 565845; www.thermo.com/shandon

xi El equipo debe ser revisado anualmente por un técnico cualificado de Thermo conforme a las instrucciones indicadas en el Manual de servicio del Shandon Sequenza®.

xii Diríjase a su distribuidor si le surgen problemas o dudas.

INTRODUCCIÓN



Shandon Sequenza® es una estación de inmunotinción compacta, completa y eficaz en la que se realizan todas las fases del proceso de tinción inmunocitoquímica (ICQ), desde la aplicación del suero bloqueador hasta incluso la contratinción. El equipo debe utilizarse como complemento de la técnica de diagnóstico principal.

El equipo Shandon Sequenza® ha sido diseñado para optimizar la organización del trabajo, para proporcionar resultados reproducibles y reducir el riesgo de cometer errores. No obstante, es preciso tener en cuenta que todos los procesos manuales exigen una gran precisión por parte del operador.

El equipo ha sido creado para procesar series de muestras por todos los métodos de tinción existentes mediante la técnica de inmunoperoxidasa (incluido inmunoperoxidasa indirecta, LAB, ABC y peroxidasa-antiperoxidasa policlonal (PAP)).

Shandon Sequenza® incorpora un novedoso conjunto de cámara de incubación (Shandon Coverplate™), que sujeta y protege los portaobjetos que contienen muestras.

2.1 SISTEMA SHANDON COVERPLATE™

El sistema Shandon Coverplate™ ofrece las siguientes ventajas:

- **Estandarización de todo el procedimiento**

  El sistema requiere el uso de un volumen de reactivo mínimo y homogéneo. Con la aplicación de 100 microlitros basta para cubrir completamente la muestra.

- **Protección de muestras**

  Este sistema proporciona un medio físico para proteger las muestras durante el procedimiento de tinción.
- **Menor intervención del operador**

A.2 RESULTADOS

Volumen de tampón de lavado (µl)

Intensidad de la tinción	20	200	500	1000	2000	Control
Inmunotinción específica	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Tinción no específica	++	++	++	+	+	+
Fondo	+	+	+ / -	-	-	-

+ + + = coloración intensa + += coloración moderada
+ = coloración escasa - = negativo

A.3 CONCLUSIÓN

De los resultados obtenidos se desprende que el volumen mínimo necesario para un lavado en tampón adecuado con el sistema de vacío es de 1 ml. Para asegurarse de que el tampón de lavado no pierde sus cualidades y que fluye de forma adecuada, se ha determinado que con el equipo Shandon Sequenza® debe aplicarse un volumen de 2 ml, con un periodo mínimo de incubación de cinco minutos. Con 2 ml de tampón de lavado se obtiene una proporción 20:1 de tampón y reactivo. En consecuencia, con cada aplicación de tampón, el reactivo que anteriormente ocupaba el espacio vacío es desplazado por un volumen de tampón nuevo 20 veces mayor, lo que garantiza un lavado eficaz de las secciones de tejido.

Referencias

1. Bourne J. Handbook of Immunoperoxidase Techniques. Dako, 1983.

2. Nadji M., Morales A. Laboratory Medicine. 1983, vol 15, pp 767-771.

APÉNDICE A, NOTA DE APLICACIÓN Nº 1

A.1 EFICACIA DEL TAMPÓN DE LAVADO EN EL SISTEMA SHANDON COVERPLATE™

Trata las secciones de tejido mediante tampón de lavado entre aplicaciones de inmunorreactivos es una práctica que permite obtener resultados óptimos con técnicas inmunocitoquímicas, y que goza de aceptación general. El intervalo mínimo de lavado de las secciones de tejido que normalmente se considera eficaz es de cinco a diez minutos. El método habitual para lavar las secciones de tejido consiste en sumergirlas en una gran cantidad de tampón y agitarlas por medios mecánicos. Además, es frecuente cambiar dos o tres veces el tampón[1, 2].

Durante la fase de desarrollo del equipo Shandon Sequenza® se planteó la necesidad de establecer los criterios de lavado aplicables al sistema Shandon Coverplate™ que se emplea en el equipo. A fin de determinar el volumen de tampón necesario para un lavado adecuado de las secciones de tejido, se aplicaron distintos volúmenes de tampón con las técnicas PAP estándar.

Las distintas muestras de tejido fueron sometidas a técnicas de inmunotinción PAP estándar dentro del sistema de vacío. Para determinar la influencia del tampón de lavado en la calidad del procedimiento de inmunotinción, se emplearon volúmenes de 20 µl, 200 µl, 500 µl, 1000 µl y 2000 µl de esta sustancia.

Los resultados de la inmunotinción se compararon con los obtenidos en muestras de control tratadas de forma idéntica, pero en las que el lavado se realizó por inmersión en una serie de tres baños de tampón de lavado, seguido de agitación.

Shandon Sequenza® utiliza un eficaz sistema de lavado que requiere una intervención mínima por parte del operador.

- **Seguridad**

  No importa la posición en que el reactivo se encuentre sobre el portaobjetos, porque cubre por entero la muestra sin necesidad de aumentar el volumen empleado. Como se ha demostrado, el sistema ofrece resultados reproducibles y fiables de la más alta calidad.

DESCRIPCIÓN GENERAL

Shandon Sequenza® es, como se ilustra, un equipo compacto.

1 Tarjeta de método

2 Bandeja de reactivos

3 Recipiente cuentagotas

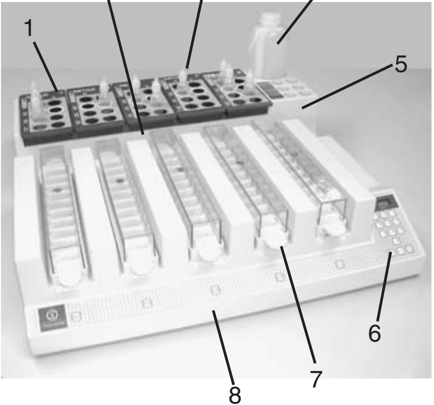
4 Recipiente de tampón

5 Cuerpo principal

6 Temporizador con panel de control

7 Bandeja portaobjetos con tapa

8 Panel frontal



Accesorios: Shandon Coverplate™ (consulte la *Sección 5.1, Shandon Coverplate™*, en la página 11).

3.1 TEMPORIZADOR MULTIVÍA

El equipo dispone de un temporizador que permite cronometrar por separado cada vía de tinción. El temporizador consta de dos visores de cristal líquido (en los que se muestra el número de la vía y el tiempo de incubación), un teclado numérico, tres teclas de función y cinco teclas de selección de vía.

Para obtener una descripción detallada del temporizador utilizado, consulte el *Capítulo 6, Inmunotinción con Shandon Sequenza®*, en la página 16.

INSTALACIÓN

Desembale con cuidado el Shandon Sequenza® y coloque el equipo en una superficie NIVELADA. Utilice la lista del *Capítulo 3, Descripción general*, para verificar que la caja incluye todos los componentes. Para instalar la batería, consulte el *Aviso de la página 3*.

LISTA DE COMPONENTES

Descripción	Referencia de catálogo
Shandon Sequenza®	
Versión en español	73300001
Accesorios comercializados por separado	
250 cámaras de incubación Shandon Coverplate™	72110013
50 recipientes cuentagotas (15 ml)	73310007
1 bandeja portaobjetos	73310017
1 recipiente de tampón (750 ml)	73310002
1 bandeja de reactivos	73310015
5 tarjetas de método en blanco	73310016
1 Guía del operador (Inglés/Francés/Alemán)	73310025

Para realizar el pedido de cualquiera de estos artículos, póngase en contacto con el representante local de Thermo.

DATOS TÉCNICOS

Dimensiones del Shandon Sequenza®: (sin recipientes)	Anchura	600 mm
	Profundidad	583 mm
	Altura	136 mm
	Peso	9 kg aprox. (desembalado)

Fuente de alimentación: 4 baterías alcalinas de magnesio 1,5 V (tipo D) Designación IEC: LR 20

Recipiente de tampón: 750 ml de capacidad

Recipiente cuentagotas: 15 ml de capacidad

Capacidad del pocillo de Shandon Coverplate: 3 ml

Capacidad de la caja para residuos: 160 ml de volumen máximo en uso

Sistema temporizador: Temporizador electrónico de 5 vías (funcionamiento independiente) con función de intervalo de incubación de 0 a 99 minutos en incrementos de 1 minuto

Visor del temporizador: Digital

Alarma del temporizador: Indicación visual y sonora de “tiempo transcurrido”

Activación del temporizador (‘On’): Pulse “START ON”.

Incorpora una función de conservación de la batería que permite la desconexión automática del temporizador (tras dos minutos aproximadamente), a menos que se hayan programado unidades de tiempo.

Desactivación del temporizador (‘Off’): Pulse CANCEL ALARM” cuando finalice un proceso.

El temporizador se desactiva automáticamente transcurrido un pequeño intervalo de tiempo (dos minutos aproximadamente).

PREPARACIÓN PARA LA INMUNOTINCIÓN

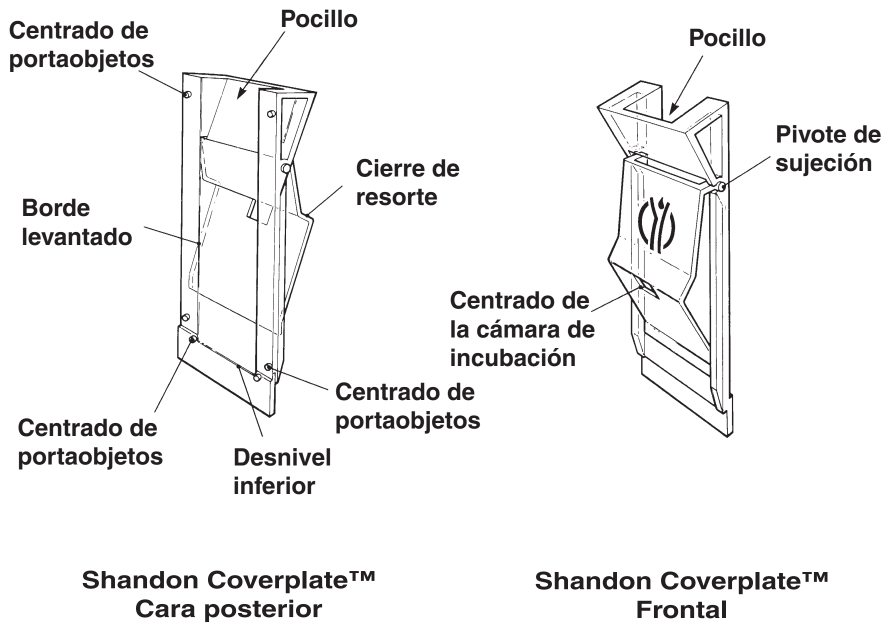
En esta sección se describe con todo detalle lo siguiente:

- El conjunto formado por el portaobjetos y el sistema Shandon Coverplate™, y su instalación en la bandeja portaobjetos
- La disposición y el uso de las tarjetas de método

5.1 SHANDON COVERPLATE™

Las cámaras de incubación desechables Shandon Coverplate™ se fabrican con material plástico moldeado.

Los bordes en relieve que hay en la cara posterior de las cámaras Shandon Coverplate™ permiten dejar un espacio entre la cámara y el portaobjetos con la muestra. Cuando el portaobjetos con la muestra se monta correctamente entre el desnivel inferior y los pasadores de centrado, los reactivos pueden fluir hacia abajo a través del espacio y aplicarse al espécimen.



Shandon Coverplate™ Cara posterior

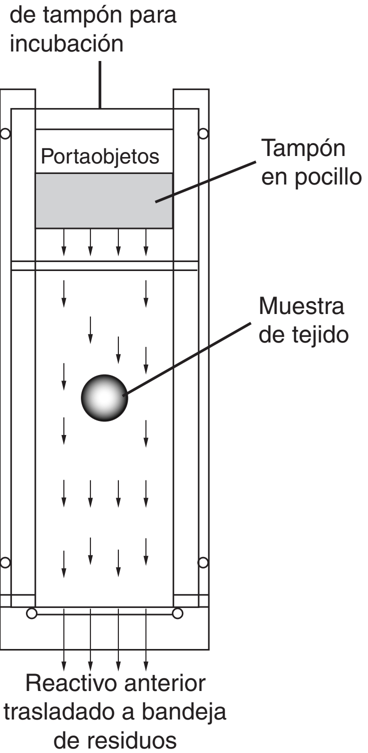
Shandon Coverplate™ Frontal

5.1.1 Uso de las cámaras de incubación Shandon Coverplate™

Los portaobjetos y las cámaras de incubación Shandon Coverplate™ llevan tampón durante el montaje (consulte las instrucciones en la *Sección 5.2, Montaje de la cámara de incubación Shandon Coverplate™ y el portaobjetos*, en la página 13).

La tensión superficial que genera el espacio que queda permite mantener en él aproximadamente 80 µl del líquido necesario para el montaje. El desplazamiento positivo de este líquido provocado por el fuerza de la gravedad tras la aplicación del primer reactivo hace que en el interior del espacio se retengan 80 µl del nuevo reactivo para permitir la incubación.

Tras introducir 2 ml de tampón en el pocillo de la cámara Shandon Coverplate™, el tampón fluye lenta y suavemente en sentido descendente a través del espacio, con lo que desplaza el reactivo anterior, y sólo permanecen los últimos 80 µl de tampón para un periodo de incubación. La aplicación de 2 ml de tampón da lugar a una sustancia con proporción de tampón y reactivo 20:1, lo que en realidad equivale a 20 renovaciones de tampón tras el uso de cada reactivo.



Cámara de incubación Shandon Coverplate™ con portaobjetos montado

LIMPIEZA Y MANTENIMIENTO



CUANDO SE UTILICEN MATERIALES PELIGROSOS CON EL EQUIPO SHANDON SEQUENZA®, TENDRÁ QUE DESCONTAMINARSE DE FORMA ADECUADA.

Para limpiar el equipo Shandon Sequenza® basta con eliminar cualquier sustancia derramada con un trapo húmedo. No se recomiendo utilizar xileno, alcohol ni otros disolventes.

Aunque el equipo no debería presentar ningún problema durante el funcionamiento, ocasionalmente será necesario cambiar las baterías.

Shandon Sequenza® se alimenta con cuatro baterías alcalinas de magnesio de 1,5 V (tipo D). A continuación se explica cómo cambiarlas.

1. Extraiga todas las bandejas, las bandejas portaobjetos y los recipientes.
2. Coloque el equipo boca abajo. El compartimiento de las baterías está situado debajo, en la parte derecha.
3. Afloje los dos tornillos de cabeza moleteada y quite la tapa.
4. Cuando cambie las baterías, preste atención a la polaridad.
5. Vuelva a colocar y asegurar la tapa. Los tornillos de cabeza moleteada sólo deben apretarse a mano.
6. Vuelva a colocar el equipo en la posición original y compruebe si recibe energía pulsando “START ON” (Iniciar).
7. Inserte de nuevo las bandejas, los recipientes, etc.



DESECHE LAS BATERÍAS CONFORME A LA NORMATIVA LOCAL.

TERMINACIÓN

7.1 TERMINACIÓN DE LA INMUNOTINCIÓN

Una vez terminada la contratinción, se aconseja aplicar un lavado final a las secciones de tejido y dejarlas en el tampón hasta que se extraigan del equipo.



EXTRAIGA LAS SECCIONES DE TEJIDO DE LA BANDEJA PORTAOBJETOS MIENTRAS LA BANDEJA TODAVÍA SE ENCUENTRA EN EL EQUIPO.

Para sacar las secciones de tejido, sujete con firmeza el conjunto como hizo antes, con el pulgar y el dedo corazón en el frontal y la parte posterior, y levante suavemente todo el conjunto. Levante y saque con cuidado el portaobjetos de la cámara Shandon Coverplate™.

A continuación, puede colocar el portaobjetos en agua destilada o tampón y desechar la cámara de incubación Shandon Coverplate™. Después puede rehidratar, aclarar y tratar los portaobjetos conforme sea necesario.

ADVERTENCIA **Por pequeño que sea, cualquier cambio ocasionado en la cámara Shandon Coverplate™ por la limpieza o la absorción del cromógeno puede afectar a los resultados de la tinción inmunocitoquímica. Por consiguiente, las cámaras de incubación Shandon Coverplate™ sólo deben utilizarse una vez, y luego desecharse.**

7.2 DESECHO

Tras cada proceso de tinción debe eliminar los residuos:

1. Retire la bandeja portaobjetos del equipo.
2. Presione sobre el mecanismo de retención de la parte posterior para que se suelten las lengüetas de sujeción.
3. Vacíe el contenido de la bandeja y elimine los residuos mediante prácticas de laboratorio estándar.
4. Vuelva a montar y colocar la bandeja portaobjetos.

5.1.2 Ventajas

Las cámaras de incubación Shandon Coverplate™ no sólo son útiles, sino también:

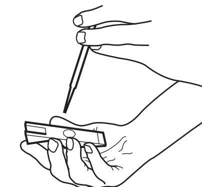
- **Cómodas,** porque son de usar y tirar
- **Fiables,** porque permiten obtener resultados coherentes de gran calidad
- **Seguras** para el usuario que tiene que manipular especímenes potencialmente peligrosos

ADVERTENCIA **No es posible garantizar la integridad de las cámaras tecnológicas Shandon Coverplate™ después de aplicar un procedimiento de limpieza.**

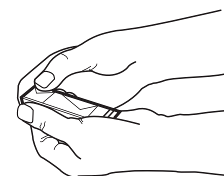
ADVERTENCIA **Por pequeño que sea, cualquier cambio ocasionado en la cámara Shandon Coverplate™ por la limpieza o la absorción del cromógeno puede afectar a los resultados de la tinción inmunocitoquímica. Por consiguiente, las cámaras de incubación Shandon Coverplate™ sólo deben utilizarse una vez, y luego desecharse.**

5.2 MONTAJE DE LA CÁMARA DE INCUBACIÓN SHANDON COVERPLATE™ Y EL PORTAOBJETOS

Para facilitar el montaje, se recomienda humedecer antes las cámaras de incubación Shandon Coverplate™ con tampón.

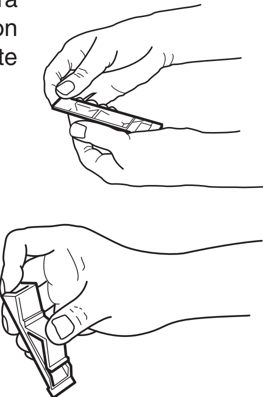


1. Sujete la cámara Shandon Coverplate™ con una mano y vierta unas cuantas gotas de tampón en la superficie plana del centro.



2. Coloque el portaobjetos en la cámara Shandon Coverplate™, de forma que la sección de tejido quede orientada hacia la cámara y cubra el tampón. Asegúrese de que en el espacio intermedio no hay BURBUJAS DE AIRE atrapadas. Cerciórese de que el portaobjetos queda situado entre los pasadores de centrado que hay en el extremo del pocillo de la cámara Shandon Coverplate™.

3. Deslice con cuidado el portaobjetos por la cámara Shandon Coverplate™ hasta que entre en contacto con el desnivel inferior de la misma y quede correctamente colocado entre los dos pasadores de centrado.



4. Sujete con firmeza el portaobjetos y la cámara Shandon Coverplate™ entre el pulgar y el dedo corazón, y mantenga el índice sobre el portaobjetos, como se ilustra:

5. Quite la tapa de la bandeja portaobjetos, coloque la tapa en la guía adyacente e introduzca la cámara Shandon Coverplate™ con el portaobjetos en la bandeja.



Sitúe el conjunto en el primer espacio que haya disponible entre las lengüetas de las muestras, con el cierre de resorte orientado hacia afuera. A continuación, baje con cuidado el conjunto hasta que la cámara Shandon Coverplate™ encaje en posición. Durante esta operación es indispensable que no se filtren burbujas de aire en el conjunto. Por este motivo, debe mantener el portaobjetos contra la cámara Shandon Coverplate™ mediante una presión ligera y constante hasta que el conjunto encaje.

6.2 APLICACIÓN DE CROMÓGENO

El cromógeno se puede preparar y guardar en el recipiente que hay a la derecha del equipo. El cromógeno se aplica de forma similar a los inmunorreactivos.

Utilice aproximadamente 500 µl de cromógeno (lo que equivale a unas 10 gotas de un recipiente de reactivos). El volumen óptimo depende del tipo de cromógeno y el método de preparación utilizados.

El empleo de menos de 10 gotas puede dar lugar a un preparado ineficaz. El cromógeno que se recomienda utilizar en el equipo es el cromógeno DAB, que permite obtener buenos resultados con una cantidad de 500 µl durante un periodo de incubación de cinco minutos. Si utiliza cromógeno AEC, puede obtener buenos resultados aplicando 100 µl (tres gotas) tres veces en periodos de incubación de 20 minutos.

6.3 CONTRATINCIÓN

El medio de contraste elegido se deposita en un recipiente de reactivos que hay a la derecha del equipo, y se aplica de forma idéntica a los inmunorreactivos (100 µl).

La hematoxilina o el pigmento verde claro son los medios de contraste más utilizados, y ambos se pueden emplear en este equipo. Sin embargo, la concentración de estas sustancias depende de las preferencias personales.

6.1 TAMPONES DE LAVADO

Por norma general, ENTRE aplicaciones de reactivos diferentes es preciso utilizar tampón de lavado, por ejemplo del recipiente situado en el ángulo posterior derecho del equipo.

Durante los 'procesos' de rutina es aconsejable aplicar un máximo de cinco tampones de lavado, como se ilustra para el método PAP:

Paso	Reactivo	Volumen (ml)
1	Suero no inmune	0,1
2	Antisuero primario	0,1
3	TAMPÓN DE LAVADO	2,0
4	Antisuero secundario	0,1
5	TAMPÓN DE LAVADO	2,0
6	Complejo PAP	0,1
7	TAMPÓN DE LAVADO	2,0
8	Cromógeno	0,5
9	TAMPÓN DE LAVADO	2,0
10	Medio de contraste	0,1
11	TAMPÓN DE LAVADO	2,0

Aplique el tampón mediante un procedimiento similar al empleado con los inmunorreactivos. El volumen de tampón de lavado RECOMENDADO es de 2 ml, cantidad suficiente para lavar adecuadamente la sección de tejido durante la inmunotinción (consulte el *Apéndice A, Nota de aplicación Nº 1*, en la página 24). Este volumen equivale aproximadamente a 2/3 de la capacidad del pocillo de la cámara Shandon Coverplate™. El tiempo de incubación recomendado para el tampón de lavado es de cinco minutos. No es aconsejable aplicar intervalos de incubación de menos de cinco minutos porque parte del tampón puede permanecer en el depósito y, por consiguiente, puede diluir los reactivos siguientes.

5.3 BANDEJAS DE REACTIVOS/TARJETAS DE MÉTODO

Las bandejas de reactivos y las tarjetas de método, que forman parte de la sección de manipulación de reactivos del Shandon Sequenza®, ofrecen ventajas únicas y garantizan un excelente rendimiento.

Como las bandejas se desmontan fácilmente para guardarlas, por ejemplo a 4°C, sólo es necesario sacar del refrigerador los reactivos requeridos en una serie de tinción concreta.

Con el equipo se suministra una serie de tarjetas de método, en las que se describen las técnicas de inmunotinción más utilizadas en la actualidad. También existen a disposición tarjetas en blanco, que puede utilizar para anotar sus propios métodos. Estas tarjetas tienen por objeto ayudarle y reducir el riesgo de cometer errores durante la inmunotinción.

Para optimizar el uso del sistema de tarjetas, se recomienda utilizar un solo método en cada proceso (por ejemplo, PAP o ABC). A lo largo del margen izquierdo de cada tarjeta aparecen el nombre del método y las fases de aplicación de reactivos en la secuencia correcta.

A la denominación de cada reactivo corresponden dos posiciones de recipiente codificadas con color. Estas dos columnas de la tarjeta contienen símbolos para 'vial no utilizado' (frasco) y para 'vial utilizado' (frasco), respectivamente.

Al comienzo de cada serie de tinción, todos los recipientes de reactivos con cuentagotas aparecen en la columna de la izquierda (es decir, son frascos no utilizados). A medida que se aplica el reactivo, el recipiente con cuenta gotas pasa a ocupar la posición pertinente en la columna de la derecha (es decir, frasco utilizado).

Con solo dar un vistazo a las bandejas de reactivos, estas columnas permiten identificar de forma inmediata, y en cualquier etapa del procedimiento, las fases realizadas. Gracias a esto, es menos probable que se equivoque y aplique dos veces un mismo reactivo, o que olvide por completo utilizar otro.

INMUNOTINCIÓN CON SHANDON SEQUENZA®

Se aconseja introducir los portaobjetos en el equipo justo antes del bloqueo con un suero no inmune. Las fases previas a ésta, como la desparafinización, la rehidratación, la digestión enzimática y el bloqueo con peroxidasa endógena, se consideran procedimientos ‘en serie’, y como tal, resulta más sencillo realizarlas fuera del instrumento.

En la secuencia siguiente se describe el uso recomendado del equipo:

1. Saque las bandejas de reactivos y los reactivos del lugar donde los guarda y colóquelos en el equipo.

2. Monte e inserte los portaobjetos conforme se describe en la *Sección 5.2, Montaje de la cámara de incubación Shandon Coverplate™ y el portaobjetos*, en la página 13. Asigne cada vía a un antisuero concreto, por ejemplo:

   Anti-IgG: bandeja de reactivos 1; portaobjetos para el tratamiento con Anti-IgG, vía 1
   Anti-IgA: bandeja de reactivos 2; portaobjetos para reactivo anti-IgA, vía 2

   y así sucesivamente.

3. Pulse “START ON” (Iniciar).

   En el visor LCD aparece lo siguiente: [1.] columna [00] minutos

4. Pulse la tecla de selección de vía correspondiente para elegir la vía del primer reactivo.

   Introduzca el tiempo de incubación del primer reactivo (0 - 99 minutos) mediante el teclado numérico; por ejemplo, Vía 1 - 20 minutos.

   En el visor LCD aparece lo siguiente: [1.] columna [20] minutos

5. Saque el primer reactivo de la posición de no utilizado, quite la tapa y aplique el reactivo a la cámara Shandon Coverplate™ de la vía 1.

   Para garantizar una inmunotinción óptima, debe aplicar 100 µl de reactivo al sistema Shandon Coverplate™. La cantidad adecuada corresponde a tres gotas de los recipientes de reactivo suministrados. El uso de más de tres gotas no contribuye a mejorar el resultado, y supone un gasto innecesario de reactivo. Tampoco se recomienda utilizar menos de tres gotas, ya que puede reducir el efecto de tinción.

   Cuando termine de utilizar el reactivo, coloque el recipiente en la columna de frascos ‘utilizados’ de la bandeja de reactivos.

   Cierre la tapa de la bandeja tras aplicar cada reactivo.

6. Pulse “START ON” (Iniciar).

   En el visor LCD se muestra una cuenta atrás. La activación del temporizador se indica mediante el parpadeo de un punto en el visor de la vía.

7. Cuando termina el periodo de incubación, se emite una señal sonora y el número de la vía correspondiente parpadea en el visor.

   Puede cancelar la alarma pulsando ‘CANCEL ALARM’ (Cancelar alarma) y luego reprogramar la vía, si es necesario. Si el periodo de incubación en una vía termina mientras se está programando otra, suena la alarma pero el visor no muestra la primera vía. Esto permite concluir la operación de programación sin interrupciones. Si la programación no se realiza en 20 segundos por algún motivo, el visor muestra la vía en la que ha terminado la incubación.

   Puede repetir la secuencia anterior para programar un máximo de cinco vías, según necesite.

   Se recomienda utilizar la función multivía cuando el tiempo de incubación de cada vía sea diferente, o cuando la tinción comience en varios momentos. Si utiliza varios antisueros al mismo tiempo, todos con el mismo intervalo de incubación, puede bastar una sola vía para cronometrar las fases de incubación.

8. Repita la aplicación de reactivos por cada fase del método.